

Aus der Medizinischen Forschung der Schering AG.

Direktor: Professor Dr. med. M. Kramer

Untersuchungen zur Hydrolyse von Steroidestern am Affen und an der Ratte

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Norbert Wenzel

aus Berlin

1970

Aus der Medizinischen Forschung der Schering AG.

Direktor: Professor Dr. med. M. Kramer

Untersuchungen zur Hydrolyse von Steroidestern am Affen und an der Ratte

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Norbert Wenzel

aus Berlin

Dekan: Professor Dr. med. Herbert Lax
Referent: Professor Dr. med. Martin Kramer
Korreferent: Professor Dr. med., Dr. rer. nat. Heinz Tiedemann



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 10. Juni 1970

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Fragestellung	Seite	2	-	4
II. Material, Technik und Methodik				
1. Untersuchte Verbindungen	Seite	5	-	7
2. Tiermaterial	Seite	8		
3. Versuchsanordnung	Seite	8	-	10
3.1. Dosis und Applikationsart	Seite	11		
3.2. Radioaktivitätsmessung	Seite	12	-	14
3.2.1. Radioaktivitäts- messung im Blut	Seite	14		
3.2.2. Radioaktivitäts- messung in den Darmabschnitten	Seite	15	-	16
III. Experimentelle Ergebnisse				
1. Steroidhormone	Seite	17	-	26
2. Steroidhormone verestert	Seite	27	-	51
3. Modellsubstanzen	Seite	52		
3.1. Natrium-valerianat	Seite	52	-	56
3.2. Glucose	Seite	57	-	60
IV. Diskussion der Ergebnisse	Seite	61	-	66
V. Zusammenfassung	Seite	67	-	68
VI. Literaturverzeichnis	Seite	69	-	71

I. Einleitung und Fragestellung

BUTENAND fand 1930, daß durch Veresterung von Steroidhormonen die biologische Wirksamkeit verlängert wird (1),(2). In der Nachfolge wurde von mehreren Autoren eine Verlängerung der biologischen Wirksamkeit veresterter Steroidhormone gegenüber freien Alkoholen nachgewiesen.

So fand HOHLWEG, daß 2 mg Oestradiol als Palmitat in ölicher Lösung dem Pavian-Weibchen injiziert, über Monate eine auffällige Brunstschwellung "der sexual skin" bewirkt (3).

MEIER und DESAULLES konnten nachweisen, daß das Wachstum von Kapaunenköpfen durch Gabe von Testosteron-undecylat wesentlich länger stimuliert wird, als nach Verabreichung von freiem Testosteron (4).

Ferner erreichte JUNKMANN (5) beim 17α -Hydroxy-progesteron, das bis zu diesem Zeitpunkt als schwaches Gestagen bekannt war, eine überraschende Wirkungssteigerung durch Veresterung in 17-Stellung.

Neben der zeitabhängigen Wirksamkeit wurde ferner beobachtet, daß die Wirkungs-dosis von der Kettenlänge der zur Veresterung herangezogenen Säure abhängt. (6). Die verlängerte biologische Aktivität von Steroidestern nach parenteraler Verabfolgung beruht nach HAMBURGER et aliter (7), (8), (9) auf einer verzögerten Freigabe des Wirkstoffes aus dem Injektionsort. Durch JUNKMANN ist diese pharmakokinetische Eigenschaft bewiesen (7). Die Verseifung des Steroidesters ist in vielen Fällen als notwendige Voraussetzung der Elimination anzusehen. Dadurch wird gleichfalls eine vermehrte Harnausscheidung von 17-Keto-Steroiden bzw. von Oestron nach Gaben von Testosteron- und Oestradiolestern erklärt (7).

Bei vergleichenden endokrinologischen Untersuchungen durch NEUMANN (31) konnte ferner gezeigt werden, daß freies Hydroxyprogesteron unwirksam ist, das Hydroxyprogesteron-palmitat dagegen starke gestagene Wirkung besitzt.

Beim Cyproteron ließ sich eine Qualitätsänderung der Hormonwirkung nachweisen. So hat das Cyproteron-acetat starke gestagene Eigenschaft und wirkt außerdem stark antiandrogen. Das freie Cyproteron dagegen hat keine Gestagenwirkung und nur etwa ein Drittel der androgenen Wirkung im Vergleich zum Acetat (32).

Das Testosteron-palmitat zeigt im Vergleich zum freien Testosteron eine Wirkungsverlängerung bis auf etwa 25 Wochen (32).

Das Oestradiol-valerianat hat im akuten Test eine dreimal stärkere Wirkung als das freie Oestradiol. Bei intramuskulärer Verabreichung läßt sich entsprechend der Dosis eine Wirkungsverlängerung auf 17 bis 48 Tage erzielen.(32).

Aufgrund dieser Ergebnisse ist es wünschenswert, eine Aussage über die zeitabhängige Spaltungsrate der Steroidhormonester machen zu können.

In der vorgelegten Arbeit wird die zeitabhängige Verseifungsrate von Metenolon-oenanthat, von Cyproteron-acetat, von Oestradiol-17-mono-valerianat, 17 α -Hydroxyprogesteron-palmitat und Testosteron-palmitat untersucht. Die Untersuchungen werden an Affen und Ratten durchgeführt. Als Modellverbindungen dienen fernerhin Glucose, Natrium-valerianat, freies Testosteron und Oestradiol.

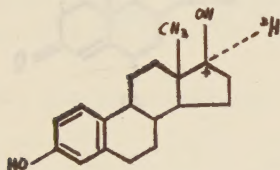
Ueber die Verbindungen Oestradiol-valerianat-6,7-³H und Cyproteron-acetat-1.2 α -methylen-³H liegen schon pharmakokinetische Untersuchungen vor, so daß noch ergänzende Untersuchungen für diese beiden Verbindungen durchgeführt werden. Die schon vorliegenden Ergebnisse beider Verbindungen werden später in die Diskussion miteinbezogen.

Zum experimentellen Nachweis werden radioaktiv markierte Verbindungen verwendet, die entweder in der Seitenkette oder im Sterangerüst markiert sind. Voraussetzung für die Anwendung der Radioisotopenmethode ist die Unterstellung, daß sich das etikettierte Molekül im Organismus genauso verhält, wie die nicht markierte Verbindung.

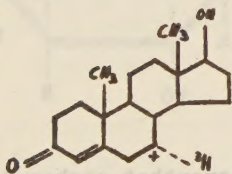
II. Material und Methoden

1. Untersuchte Verbindungen

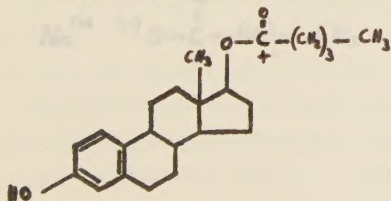
1.1. Oestradiol-17 α - ^3H



1.2. Testosteron-7 α - ^3H

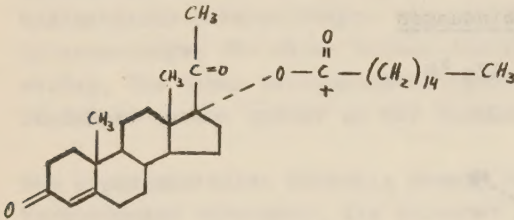


1.3. Oestradiol-17 β -monovalerianat-carboxyl- ^{14}C

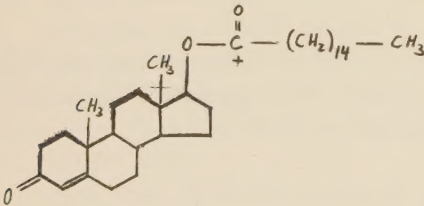


+ zeigt die Stelle der Markierung an

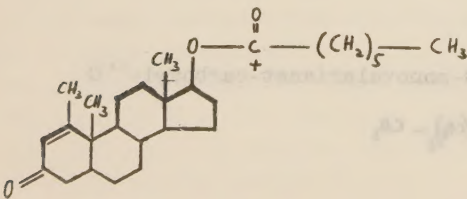
1.4. 17 α -Hydroxyprogesteron-palmitat-carboxyl-¹⁴C



1.5. Testosteron-17 β -palmitat-carboxyl-¹⁴C

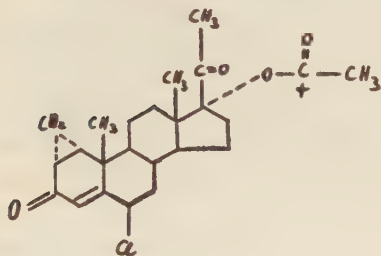


1.6. 1-Methyl- Δ^1 -androstenolon-17 β -oenanthat-carboxyl-¹⁴C
(Metenolon-oenanthat)

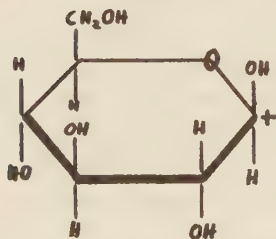


+ zeigt die Stelle der Markierung an

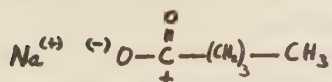
1.7. 1,2 α -Methylen-6-Cl- Δ^4 . 6 -pregnadien-17 α -ol-3,20-dion-17 α -acetat-carboxyl- ^{14}C
(Cyproteron-acetat)



1.8. Glucose-1- ^{14}C



1.9. Natrium-valerianat-carboxyl- ^{14}C



+ zeigt die Stelle der Markierung an

2. Tiermaterial

Als Versuchstiere werden Affen der Gattung "baboon" mit einem durchschnittlichen Gewicht von 7.05 kg (4,1 - 10,0 kg) verwendet. Die Zuordnung von männlichen und weiblichen Tieren zu den Versuchen erfolgt willkürlich. Weiterhin werden die an Affen durchgeführten Untersuchungen mehrmals an männlichen Albino-Ratten wiederholt. Das Durchschnittsgewicht der Ratten beträgt 110 g.

3. Versuchsordnung

Bei der Frage nach der Verseifungsrate von Steroidestern soll möglichst genau ausgesagt werden können, wieviel Prozent des applizierten Esters zu einer bestimmten Zeit t verseift worden sind. Eine genaue Aussage über die Menge verseifter Substanz läßt sich aber nur dann machen, wenn ein Indikator vorhanden ist, der zu dem Zeitpunkt - in dem verseift worden ist - chemisch oder physikalisch in Erscheinung tritt. Ferner muß die Menge an auftretendem Indikator der verseiften Estermenge quantitativ direkt proportional sein.

Die bei der Hydrolyse frei werdende Fettsäure wird durch β -Oxydation (LYNEN 37) und Citratcyklus abgebaut und das so gebildete CO_2 -Molekül über die Lungen abgeatmet. Untersuchungen mit schwerem Wasser über den Umsatz der Fettsäuren der Leber haben gezeigt, daß in maximal 2 Tagen alle Fettsäuren der Leber erneuert sind (38). Es kann deswegen angenommen werden, daß der Abbau zu CO_2 und die Abatmung nur kurzer Zeit bedürfen.

Wird nun bei den zu applizierenden Steroidestern der Carboxyl-Kohlenstoff der Fettsäure durch ein ^{14}C -Atom ersetzt, so muß das durch Decarboxylierung abgespaltene und veratmete CO_2 -Molekül das ^{14}C -Atom enthalten. Das exhalierete $^{14}\text{CO}_2$ wird aufgefangen und über bestimmte Zeitabschnitte gemessen, so daß zu jedem Zeitpunkt eine

Aussage über den Grad der Verseifungsrate gemacht werden kann. Um das $^{14}\text{CO}_2$ auffangen zu können, befindet sich das Versuchstier in einem Exhalationsgefäß, aus dem die abgeatmeten Gase kontinuierlich abgesaugt werden. Zur Messung des aktiven CO_2 wird das Exhalationsmeßgerät FHT 50 A der Firma Friesicke und Höpfner benutzt. Dieses Gerät zählt in zwei Flächenzählern die pro Zeiteinheit auftretenden $^{14}\text{CO}_2$ -Moleküle und schreibt über der Zeitachse eine Kurve der gemessenen Aktivität.

Aus der geschriebenen Kurve und aus der Formel

$$A = \frac{\Phi}{K_1} \cdot \int_0^T I(t) dt$$

läßt sich die verseifte Estermenge zu jedem Zeitpunkt bestimmen.

In der angegebenen Formel bedeuten:

A = Aktivität (μc)

Φ = Luftdurchsatz (cm^3/min)

K_1 = Eichkonstante des Gerätes ($\frac{\text{Imp/min}}{\mu\text{c/cm}^3}$)

I = Impulsrate

In Analogie zur Abatmung von ^{14}C -markierten Steroidestern werden freie tritium-markierte Steroide untersucht. Hierbei soll aus dem über die Lungen und über die Haut abgegebenen Wasser der Gehalt an Tritium in Form von TOH bestimmt werden. Für diese Bestimmung ist eine Aenderung der Versuchsanordnung nötig. Das Versuchstier befindet sich auch hier in einem Exhalationsgefäß. Um das vom Tier abgegebene Wasser vollständig zu eliminieren, wird das Gefäß mit getrockneter Preßluft bei einem Gasdurchsatz von etwa 3 Litern/Minute durch-

strömt. Die Trocknung der Preßluft erreicht man durch Vorschaltung einer mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllten Waschflasche. Eine zwischen Exhalationsgefäß und Schwefelsäure geschaltete Waschflasche, die Watte enthält, soll das Uebergehen von Schwefelsäuredämpfen auf das Tier verhindern. Das so aus dem Exhalationsgefäß herausgepreßte Wasser kann nun in einem U-Rohr ausgefroren werden. Hierzu wird das U-Rohr in ein Dewar-Gefäß gehängt, das mit einer Kältemischung - Methanol und Trockeneis - gefüllt ist. Das hier gesammelte Volumen wird in jedem Fall auf 5 ml mit Aqua bidestillata aufgefüllt. 0,2 ml dieses Volumens werden dann zur Messung in Lupolen-Meßfläschchen, die mit 20 ml wasserlöslichem Szintillator (400 g Naphthalin, 40 g PPO, 1 g PoPoP und 4 Liter Dioxan) aufgefüllt waren, einpipettiert und die Aktivität gegen einen Standard und einen Leerwert im Tri-Carb-Liquid-Scintillation Spectrometer der Firma Packard bei 4° C gemessen. Die Dauer der Messung variiert je nach Packard-Modell zwischen 2, 3 und 5 Minuten. Die hier gewonnenen Impulsraten multipliziert mit dem Faktor 500 ergeben dann die Gesamtaktivität der Probe. Von jeder Probe werden Dreifachbestimmungen durchgeführt und jede Einzelmessung im Packard ebenfalls dreimal wiederholt, so daß pro Meßprobe ein Durchschnittswert aus insgesamt neun Einzelmessungen errechnet werden kann. Aus diesem Wert ergeben sich dann nach dem Dreisatz - bezogen auf den Standard - die Prozente der Eingabe.

3.1. Dosis und Applikationsart

Da es sich um Radioaktivitätsmessungen handelt, werden Dosisangaben im folgenden nicht in mg angegeben, sondern entsprechend der spezifischen Aktivität der verabreichten Substanz wird die Dosisangabe in μc vorgenommen. Die verabreichten Dosen in μc schwanken bei den Untersuchungen an Affen zwischen 400 μc und 20 μc . Die den Ratten verabreichten Substanzmengen haben eine Aktivität zwischen 93 μc und 2,03 μc .

Die Höhe der gegebenen Dosis richtet sich nach dem vermuteten Wiederfindungswert des eingesetzten Pharmakons.

Bei jeder untersuchten Verbindung wird grundsätzlich die orale Applikation der parenteralen gegenübergestellt. Die Steroide, die intramuskulär und subcutan verabreicht werden, sind in Rizinusöl/Benzylbenzoat 1 : 1 gelöst. Bei oraler Gabe werden alkoholische Lösungen benutzt. Die intravenöse und rectale Applikationsart wird nur bei Glucose untersucht, so daß in diesem speziellen Fall wässrige Lösungen appliziert werden können. Bei allen Applikationsarten werden 1 ml Insulinspritzen benutzt, um eine möglichst große Genauigkeit zu erzielen. Die orale Verabreichung beim Affen erfolgt durch eine Magensonde, bei der Ratte nehmen wir die Eingabe mittels einer Knopfkanüle vor.

Ein Herausfließen der rectal verabreichten Flüssigkeit verhindern wir durch Verkleben des Rattenafters mit Kollodium.

3.2. Radioaktivitätsmessung

Jeder Meßreihe muß ein Standard und ein Leerwert zugeordnet sein, um den prozentualen Aktivitätsgehalt der Probe auf die Eingabe berechnen zu können.

Zur Bereitung der Standards nehmen wir von der in Lösung befindlichen Versuchssubstanz eine definierte Menge, z.B. 100 % der Eingabe und füllen dieses Volumen in einem Meßkolben auf 50 ml mit entsprechenden Lösungsmitteln wie Methanol bzw. Aethanol auf. Aus diesem Kolben werden jeweils sechs mal 0,5 ml in kollodierte Filterpapierhütchen (in Kegel gepreßtes aschefrei verbrennendes Rundfilterpapier, das durch mehrmaliges Kollodieren wasserdicht imprägniert ist) einpipettiert. Die Proben trockneten wir bei einer Temperatur von 60° C 2 Tage lang. Nach erfolgter Trocknung werden die Proben in reiner O₂ Atmosphäre in 1 Liter Erlenmeyer-Kolben verbrannt. Hierzu benutzen wir modifizierte Waschflaschenstopfen. Bei diesen Stopfen trägt das in den Kolben ragende Rohr einen mit einer Schlaufe versehenen Palladiumdraht. Die Schlaufe dient als Halterung für die zu verbrennende Probe. Das zuführende Glasrohr ist zugeschmolzen, auf das abführende wird ein gasdicht verschlossener Denit-Warburg-Schlauch geschoben. Wir leiten nun die Verbrennung ein, in dem ein vorher auf die Probe gesteckter Fidißus entzündet und der Stopfen dann fest auf den Erlenmeyer-Kolben aufgesetzt wird. Etwa 15 Minuten nach Abschluß der Verbrennung geben wir zur Absorption der entstandenen Gase CO₂ und H₂O durch den Warburg-Schlauch mittels einer Rekordspritze 20 ml einer Absorptionsflüssigkeit.

Bei ^{14}C -Markierung besteht das Absorptionsgemisch aus 4500 ml Methanol und 540 ml Aethanolamin.

Bei ^3H -markiertem Material wird reines Methanol benutzt. Nach 60 Minuten werden die Kolben geöffnet und jeweils drei mal 5 ml in Lupolen-Meßfläschchen, die vorher mit 15 ml Scintillator-Toluol (20 g Terphenyl, 250 mg PoPoP - 1,4-bis-2-(5-phenoxazolyl)benzol - und 5 Liter Toluol) gefüllt wurden.

Zur Messung von Tritium markiertem Wasser benutzen wir den schon oben erwähnten wasserlöslichen Scintillator.

Nach Durchmischen werden die Proben im Packard Scintillation Counter bei 4°C über die Dauer von 2, 3 bzw. 5 Minuten gemessen. Da zu jeder Einzelmessung Dreifachbestimmungen angefertigt werden, ergeben sich für die Bestimmung der Standards je 18 Einzelwerte. Der Standard errechnet sich dann aus folgender Formel:

$(\text{Summe der Einzelmessungen: } 18) \cdot 100 = \text{Impulse für } 100\% \text{ der Eingabe.}$

Als Leerwerte benutzen wir für Blutspiegeluntersuchungen Leerblut, das wir den Versuchstieren vor Beginn der Untersuchungen entnommen hatten.

Für die Aktivitätsbestimmung in den Darmteilen werden als Leerwerte Dünndarmteile unbehandelter Ratten benutzt. Bei Aktivitätsmessungen von TOH setzen wir Aqua bidestillata als Leerwert ein.

Die Leerwertproben für Blut- und Darmteile werden vorher den gleichen Aufbereitungsschritten wie die

Standardproben unterzogen.

Die Subtraktion der Leerwertimpulse von der Impulsrate der Meßprobe nimmt der Counter automatisch vor.

3.2.1. Radioaktivitätsmessung im Blut

Bei den an Affen durchgeführten Exhalationsmessungen laufen Blutspiegelkontrollen parallel zur Versuchsdauer. Die Blutentnahmen erfolgen aus der Cubitalvene einer oberen Extremität. Es werden jeweils 2 ml Blut entnommen, denen zur Gerinnungshemmung einige Kristalle Heparin zugesetzt sind.

Zu Beginn der Untersuchung halten wir die Entnahmeintervalle klein, gegen Ende wird Blut in Abständen von 2 Stunden entnommen. Von den jeweils entnommenen 2 ml Blut werden drei mal 0,5 ml in kollodierte Papierhütchen einpipettiert. Die weitere Aufbereitung der Blutproben weicht nicht von der oben geschilderten Aufbereitung der Standards ab. Bezogen auf die Impulsrate der Standards werden die Prozente der Eingabe pro 100 ml Blut nach folgender Beziehung errechnet:

$$\frac{\text{Bekannte Menge Standard}}{\text{Impulse Standard}} = \frac{\text{Unbekannte Menge Probe}}{\text{Impulse Probe}}$$

Dem Kurvenverlauf der Blutspiegelwerte liegt die Umrechnung in $\mu\text{g } \%$ zugrunde.

3.2.2. Radioaktivitätsbestimmung in den Darmabschnitten

Bei den Exhalationsmessungen, die an Ratten vorgenommen werden, untersuchen wir außerdem den MDK auf unverseifte Steroidester. Hierzu wird das Tier nach Beendigung der Exhalationsmessung mit Aether pro narcosi narkotisiert und mit einem Scherenschlag beide Carotiden eröffnet. Nach Entbluten eröffnen wir das Abdomen und entnehmen den gesamten MDK. Der Kot bzw. Nahrungsbrei wird in den Darmteilen belassen. Nach Trennung in die Abschnitte Magen, Duodenum, Jejunum und Ileum, Rest-Darm werden die Darmteile in der automatischen Gefriertrocknungsanlage WKF Typ L 5 der Firma Phywe zwei Tage lang getrocknet. Danach erfolgt mechanisches Homogenisieren der Trockensubstanz und Auswiegen der Einzelabschnitte auf der Digitalanalysenwaage. Von jedem Darmteil wiegen wir drei mal je 50 mg in nicht kollodierte Papierhütchen ein, die dann anschließend in der schon beschriebenen Weise verbrannt und gemessen werden.

Auch hierbei ist die unterschiedliche Markierung zu berücksichtigen. Die ^{14}C -markierten Verbindungen werden mit methanolischem Aethanolamin absorbiert und mit Scintillator-Toluol gemessen, die ^3H -markierten Verbindungen dagegen in reinem Methanol absorbiert und in wasserlöslichem Scintillator gemessen.

Die Berechnung erfolgt wie schon beschrieben aus Neunfachbestimmungen, u.z. durch Multiplikation eines auf das Organgewicht zu 50 mg errechneten Faktors mit der Durchschnittsimpulsrate der neun Messungen.

Prozent der Eingabe pro Darmteil lassen
sich dann nach folgender Beziehung be-
rechnen.

$$\frac{\text{Bekannte Menge Standard}}{\text{Impulse Standard}} = \frac{\text{Unbekannte Menge Probe}}{\text{Impulse Probe}}$$

III. Experimentelle Ergebnisse

1. Steroid-Hormone (freie Verbindungen)

1.1. Testosteron

Nach subcutaner Gabe von $200 \mu\text{c} = 0,112 \text{ mg}$ Testosteron am Affen werden nach 8 Stunden insgesamt $0,062 \%$ der verabreichten Aktivität als TOH abgeatmet. Der Blutspiegel erreicht nach 2 Stunden mit $1,10 \mu\text{g} \%$ sein Maximum, fällt dann aber konstant pro Stunde um etwa 10% des maximalen Wertes ab.

Bei der intramuskulären Gabe werden nach 8 Stunden insgesamt $0,055 \%$ der Aktivität abgeatmet. Der Blutspiegel dagegen erreicht schon innerhalb der ersten Stunde sein Maximum von $2,28 \mu\text{g} \%$, fällt dann in den ersten vier Stunden sehr rasch und nähert sich dann langsam dem Niveau der subcutanen Applikation.

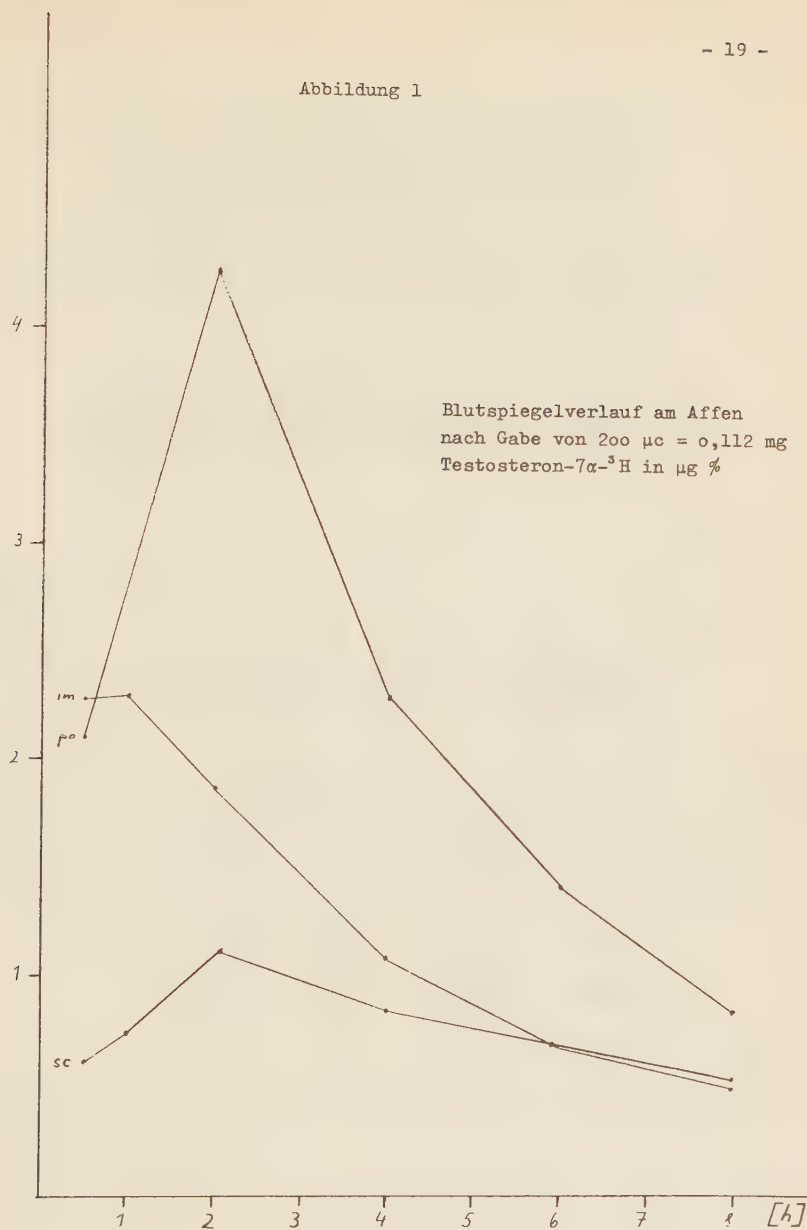
Nach oraler Verabreichung atmet das Versuchstier in 8 Stunden $0,051 \%$ der gegebenen Menge als TOH ab. Der Blutspiegel erreicht nach einer Stunde fast das Niveau der intramuskulären Gabe, steigt aber noch auf $4,25 \mu\text{g} \%$ nach vier Stunden an. Nach 8 Stunden bestehen bei den einzelnen Applikationsarten kaum noch Unterschiede in den Blutspiegelwerten (Tabelle 1; Abb. 1)

Tabelle 1

Blutspiegelwerte und abgeatmetes TOH nach
Gabe von 200 µc = 0,112 mg Testosteron-7α-³H
am Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel (µg %)			Abgeatmetes TOH (% der Eingabe)		
	s.c.	i.m.	p.o.	s.c.	i.m.	p.o.
0,5	0,61	2,28	2,09			
1	0,74	2,30	2,71			
1,5					0,013	
2	1,10	1,86	4,25	0,015		0,013
3				0,014	0,013	0,012
4	0,84	1,08	2,28	0,017	0,015	0,013
6	0,66	0,66	1,41			
8	0,52	0,51	0,82	0,016	0,014	0,013
Gesamt:				0,062	0,055	0,051

Abbildung 1



Die Ratte dagegen ist in der Lage bei einer Dosis von $92,1 \mu\text{c} = 0,051 \text{ mg}$ eine etwa um den Faktor vier größere Menge an TOH im gleichen Zeitraum abzuatmen. So werden nach oraler Gabe nach 8 Stunden etwa $0,20 \%$ und nach 24 Stunden $0,61$ bzw. $0,36 \%$ der Eingabe abgeatmet.

Nach subcutaner Applikation liegt die Abatmungsrate nach 8 Stunden bei $0,40 \%$ und nach 24 Stunden sogar bei fast 1% der Eingabe. (Tabelle 2)

Tabelle 2

Abgeatmetes TOH nach Gabe von $92,1 \mu\text{c} = 0,051 \text{ mg}$ Testosteron- $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ an der Ratte

Zeit in Stunden	Abgeatmetes TOH (% der Eingabe)			
	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.
4	0,039	0,100	0,140	0,220
8	0,170	0,094	0,250	0,250
24	0,320	0,360	0,440	0,420
Gesamt:	0,61	0,56	0,83	0,89

Bei der Untersuchung der einzelnen Darmabschnitte auf nicht resorbierte Substanz enthielt der Enddarm den größten Anteil - bis zu 20 % - das Duodenum den geringsten mit Mengen unter 1 % der Eingabe (Tab. 3).

Tabelle 3

In den Darmabschnitten der Ratte zurückbestimmte Aktivität nach Gabe von 92,1 μc = 0,051 mg Testosteron-7 α - ^3H

Darmabschnitt	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.
Magen	0,37	4,68	3,10	0,29
Duodenum	0,24	0,29	0,23	0,18
Jejunum-Ileum	4,30	7,04	4,78	2,65
Enddarm	16,03	18,40	14,01	11,68
Gesamt:	20,94	30,41	22,12	14,80

1.2. Oestradiol

Nach oraler Verabreichung von $400 \mu\text{c} = 1,11 \text{ mg}$ Oestradiol veratmet der Affe innerhalb von 8 Stunden $0,31 \%$ der Eingabe. Die Einzelfractionen differieren kaum. So werden pro Stunde ca. $0,040 \%$ über die Lungen und die Haut abgegeben. Der Blutspiegel hat nach 30 Minuten eine Höhe von $1,28 \mu\text{g} \%$, steigt dann langsam und erreicht nach 8 Stunden eine Höhe von $3,41 \mu\text{g} \%$.

Nach intramuskulärer Gabe wird nach 8 Stunden nur annähernd die Hälfte im Vergleich zur oralen Applikation abgeatmet. Die Einzelfractionen unterscheiden sich ebenfalls nicht und liegen pro Stunde bei ca. $0,020 \%$. Der Blutspiegel zeigt sein Maximum von $10,15 \mu\text{g} \%$ schon nach 30 Minuten, fällt anfangs ziemlich rasch und bleibt nach 4 Stunden etwa bei einem Wert von $5,30 \mu\text{g} \%$ stehen.

Die Werte bei subcutaner Gabe des Pharmakons liegen etwa zwischen den Werten der oralen und intramuskulären Applikation. Nach 8 Stunden werden insgesamt $0,187 \%$ abgeatmet. Die Ausscheidungsrate pro Stunde beträgt ca. $0,025 \%$. Der Blutspiegel steigt innerhalb von 30 Minuten auf $9,09 \mu\text{g} \%$, fällt in den ersten 4 Stunden bis auf $2,31 \mu\text{g} \%$ und behält das Niveau in etwa bei. (Tabelle 4, Abb. 2).

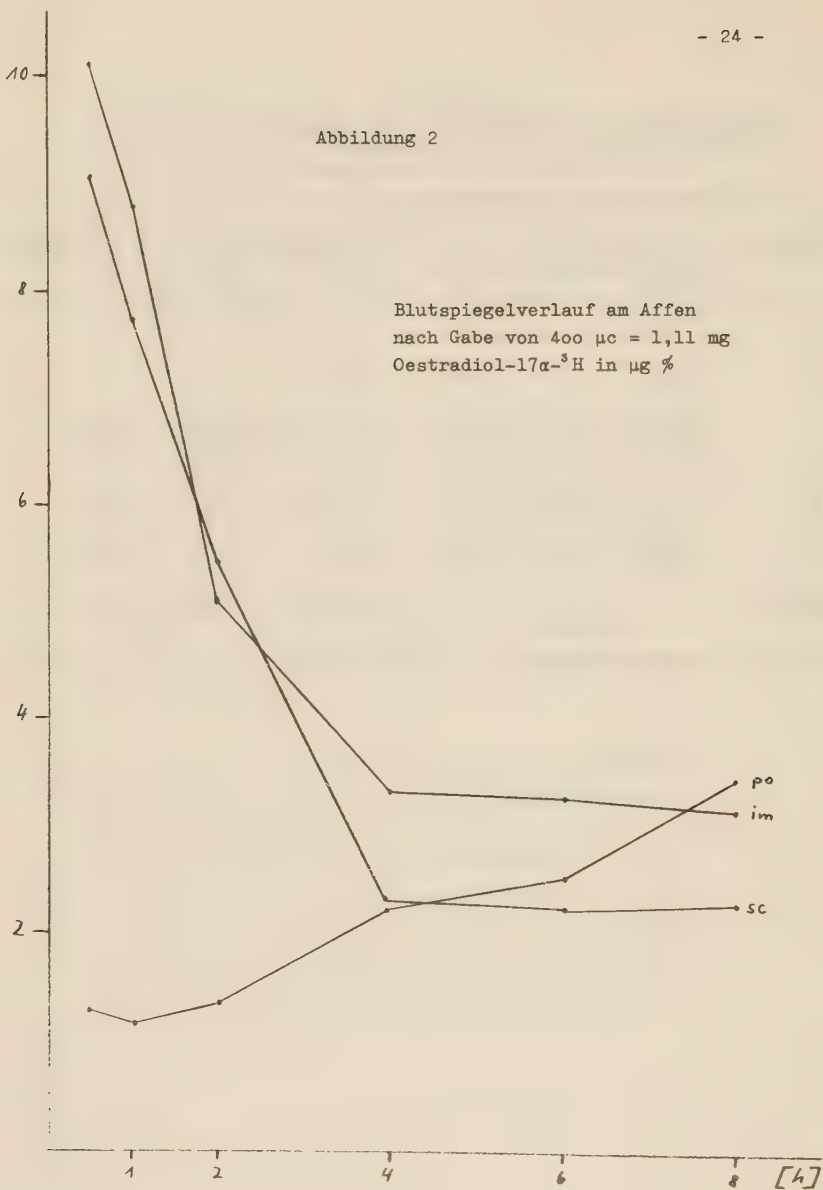
Tabelle 4

Blutspiegel und abgeatmetes TOH nach Gabe von 400 µc =
1,11 mg Oestradiol-17α-³H am Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel in µg %			Abgeatmetes TOH (% d. Eingabe)		
	p.o.	i.m.	s.c.	p.o.	i.m.	s.c.
0,5	1,28	10,15	9,04			
1	1,19	8,79	7,72			
2	1,32	5,09	5,49	0,046	0,031	0,021
4	2,12	3,37	2,31	0,077	0,038	0,036
6	2,57	3,22	2,26	0,120	0,059	0,067
8	3,41	3,15	2,35	0,069	0,030	0,063
Gesamt:				0,312	0,158	0,187

Abbildung 2

Blutspiegelverlauf am Affen
nach Gabe von $400 \mu\text{c} = 1,11 \text{ mg}$
Oestradiol- 17α - ^3H in $\mu\text{g} \%$



Wird der Ratte ein Viertel der beim Affen applizierten Menge gegeben, so scheidet diese bei oraler Verabreichung nach 8 Stunden eine zehnfach größere, nach 24 Stunden sogar eine um den Faktor zwanzig höhere Menge aus. So werden nach 24 Stunden 2,39 bzw. 4,90 % der Eingabe abgeatmet. Nach subcutaner Injektion des Pharmakons liegen die Abatmungsraten noch etwas höher, u.z. bei 4,59 bzw. 5,15 % der Eingabe. (Tab. 5)

Tabelle 5

Abgeatmetes TOH nach Gabe von 100 μ c = 0,277 mg Oestradiol-17 α -³H an der Ratte

Zeit in Stunden	Abgeatmetes TOH (% der Eingabe)			
	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.
4	0,270	0,99	1,00	0,72
8	0,074	1,26	1,28	0,96
24	2,050	2,65	2,36	3,45
Gesamt:	2,390	4,90	4,59	5,15

Die einzelnen Darmteile enthalten nach Tötung der Versuchstiere kaum noch unverstoffwechseltes Oestradiol. Die Werte bewegen sich in der Größenordnung von 0,01 bis 1 % der Eingabe (Tabelle 6).

Tabelle 6

In den Darmabschnitten der Ratte zurückbestimmte Radioaktivität nach Gabe von 100 μ c = 0,277 mg Oestradiol-17 α -³H

Darmabschnitte	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.
Magen	0,260	0,086	0,036	0,056
Duodenum	0,094	0,130	0,038	0,074
Jejunum-Ileum	0,680	1,240	0,170	0,260
Enddarm	<u>0,520</u>	<u>0,190</u>	<u>0,230</u>	<u>0,260</u>
Gesamt	1,554	1,646	0,474	0,650

2. Steroid-Hormone verestert

2.1. Oestradiol-17-monovalerianat

Bei oraler Gabe von $20 \mu\text{c} = 2,48 \text{ mg}$ Oestradiol-valerianat werden beim Affen innerhalb von 8 Stunden 66 % des Esters gespalten. In den ersten Stunden liegt die Verseifungsrate pro Stunde bei etwa 15 %, fällt dann aber gegen Ende der Versuchsdauer bis auf Werte unter 5 %. Der Blutspiegel hat nach 30 Minuten einen Wert von $4,72 \mu\text{g} \%$ erreicht und steigt langsam bis auf $8,06 \mu\text{g} \%$ an.

Wird Oestradiol-valerianat intramuskulär verabreicht, liegt die Verseifungsrate nach 8 Stunden bei 1,64 %. Pro Stunde werden ziemlich konstant etwa 0,20 % des Esters gespalten. Auch der Blutspiegel zeigt keinen markanten Verlauf, sondern pendelt mit kleinen Abweichungen um einen Wert von $1,30 \mu\text{g} \%$.

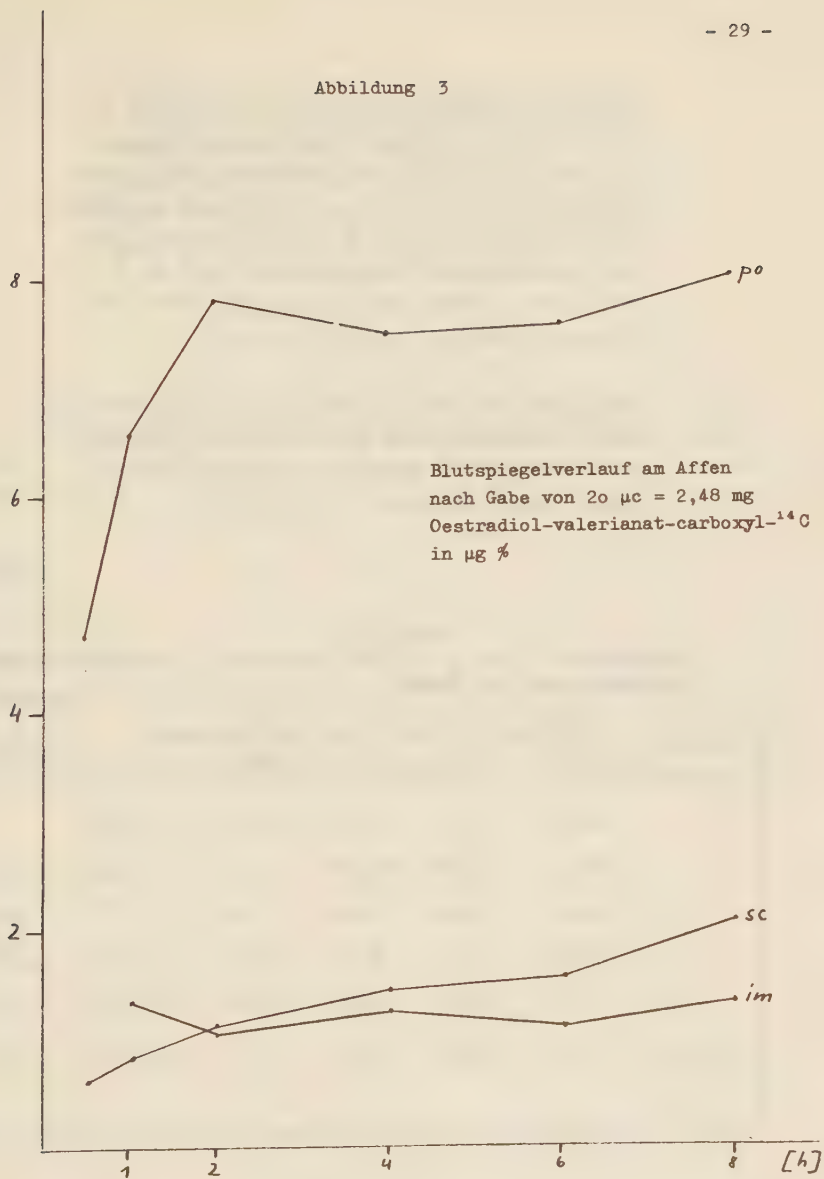
Die Werte bei subcutaner Verabreichung liegen etwa zwischen den Ergebnissen der oralen und intramuskulären Gabe. So spaltet das Versuchstier innerhalb von 8 Stunden 15,46 % der Eingabe. Die pro Stunde verseifte Menge liegt anfangs bei 2,5 %, fällt dann aber bis auf Werte von unter 1 %. Der Blutspiegel steigt sehr langsam bis auf $2,08 \mu\text{g} \%$ an. Dieser Wert wird aber erst nach 8 Stunden erreicht. (Tab. 7, Abb. 3).

Tabelle 7

Blutspiegel und abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von 20 μc =
2,48 mg Oestradiol-valerianat am Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel ($\mu\text{g } \%$)			Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ ($\%$ d.E.)		
	i.m.	p.o.	s.c.	i.m.	p.o.	s.c.
0,5		4,72	0,64			
1	1,38	6,60	0,83	0,21	15,00	2,76
2	1,06	7,82	1,30	0,21	16,20	3,05
4	1,26	7,52	1,42	0,47	21,00	5,25
6	1,10	7,60	1,58	0,47	6,05	3,05
8	1,37	8,06	2,08	0,28	8,17	1,35
Gesamt:				1,64	66,32	15,46

Abbildung 3



Die Ratte dagegen verseift im gleichen Zeitraum prozentual etwa gleich große Mengen des Esters. Die Verseifungsraten schwanken bei oraler Gabe von $5 \mu\text{c} = 0,62 \text{ mg}$ zwischen 64,27; 82,17 und 63,05 %. Pro Stunde ist die Spaltungsrate anfangs mit 20 - 30 % sehr hoch, fällt dann aber gegen Ende der Untersuchung bis unter 5 %.

Gibt man den Ester subcutan, so sind auch hier zum Affen kaum Unterschiede feststellbar. Die nach 8 Stunden verseifte Estermenge liegt bei etwa 15 %.(Tab. 8)

Tabelle 8
Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von $5 \mu\text{c} = 0,62 \text{ mg}$ Oestradiol-valerianat an der Ratte

Zeit in Stunden	Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ in % der Eingabe					
	p.o.	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.	s.c.
1	10,04	30,00	21,15	0,42	0,36	
2	11,03	21,50	18,40	1,16	1,00	1,00
3	20,80	12,40	9,20	1,90	1,75	2,50
4	13,80	8,20	6,60	2,65	2,80	1,25
8	8,60	10,07	8,30	11,40	13,50	6,40
Gesamt:	64,27	82,17	63,05	17,53	19,41	11,15

Die auf unverseiftes Oestradiol-valerianat untersuchten Darmabschnitte enthalten nach oraler Verabreichung Steroidmengen von insgesamt 6 - 9 %. Bei subcutaner Gabe dagegen liegt die unverändert wiedergefundene Menge immer unter 2 % der Eingabe (Tab. 9).

Tabelle 9

In den Darmabschnitten der Ratte zurückbestimmte Radioaktivität nach Gabe von 5 μ c = 0,62 mg Oestradiolvalerianat

Darmteil	p.o.	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.	s.c.
Magen	2,26	2,60	7,70	0,12	0,17	0,10
Duodenum	0,18	0,60	0,18	0,11	0,20	0,33
Jejunum-Ileum	2,06	1,72	1,36	0,40	0,75	0,36
Enddarm	1,76	2,89	2,47	0,42	0,63	0,24
Gesamt	6,26	7,81	11,71	1,05	1,75	1,03

2.2. Testosteron-palmitat

Nach oraler Applikation von $30 \mu\text{c} = 100 \text{ mg}$ Testosteron-palmitat werden vom Affen in 8 Stunden $0,80 \%$ verseift. Die pro Stunde gespaltene Menge liegt bei ungefähr $0,10 \%$.

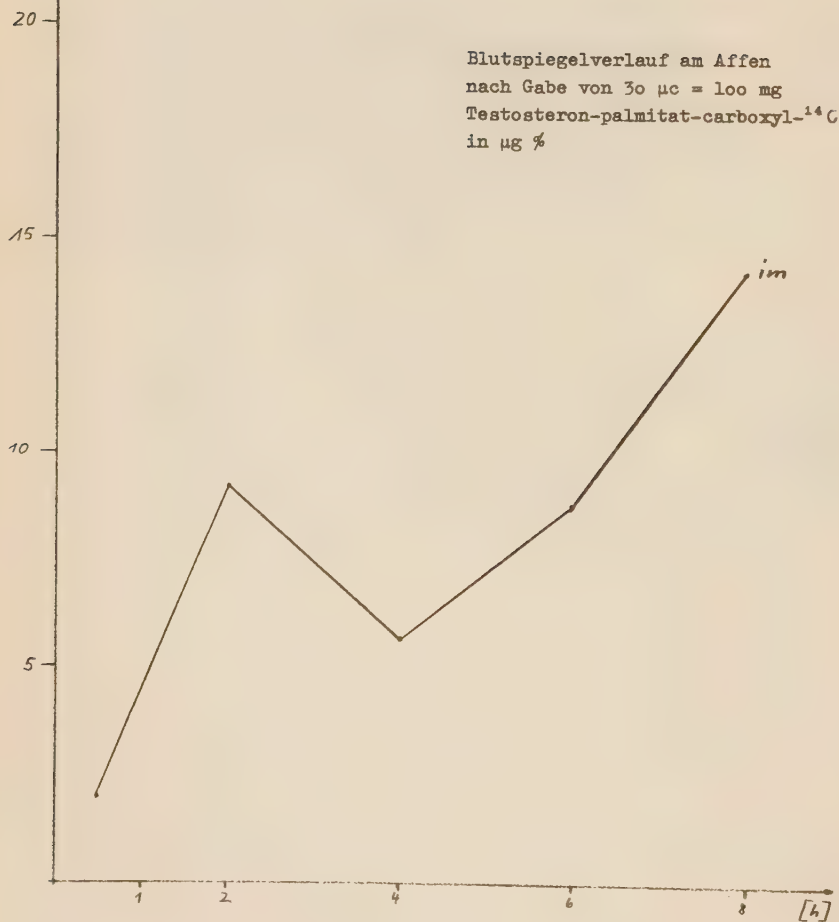
Bei intramuskulärer Verabreichung ist die Verseifungsrate geringer. Nach 8 Stunden sind nur $0,022 \%$ des Esters gespalten. Pro Stunde werden rund $0,003 \%$ verseift. Der Blutspiegel erreicht nach 2 Stunden ein Maximum von $9,40 \mu\text{g} \%$, fällt bis auf $5,7 \mu\text{g} \%$ und erreicht nach 8 Stunden erneut ein Maximum mit $14,1 \mu\text{g} \%$. (Tab. 10, Abb. 4).

Tabelle 10

Blutspiegel und abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von
30 μc = 100 mg Testosteron-palmitat an Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel ($\mu\text{g } \%$)	Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ ($\%$ d. E.)	
	i.m.	i.m.	p.o.
0,5	2,1		
1		0,003	0,005
2	9,4	0,004	0,050
4	5,7	0,004	0,160
6	8,8	0,004	0,220
8	14,1	0,006	0,320
Gesamt:		0,022	0,800

Abbildung 4



Die Ratte ist in der Lage nach oraler Verabreichung von $3 \mu\text{c} = 10 \text{ mg}$ prozentual die zehnfache Menge des Esters zu spalten. Nach 8 Stunden sind ca. 2 - 5 % als $^{14}\text{CO}_2$ abgeatmet. Die pro Stunde abgeatmete Aktivität liegt zwischen 0,20 und 1 %.

Bei intramuskulärer Applikation ergibt sich zur Verseifungsgeschwindigkeit am Affen ebenfalls ein Unterschied um den Faktor zehn. Nach 8 Stunden hat die Ratte bei einer durchschnittlichen Spaltungsrate von 0,020 % etwa 0,16 % des Esters hydrolysiert. (Tab. 11)

Tabelle 11

Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von $3 \mu\text{c} = 10 \text{ mg}$ Testosteronpalmitat an der Ratte

Zeit in Stunden	Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$				
	p.o.	p.o.	p.o.	p.o.	i.m.
1	0,28	0,33	0,67	0,67	0,018
2	0,43	0,28	1,20	0,67	0,018
4	0,89	0,89	2,03	1,40	0,036
6	0,63	0,67	0,89	0,67	0,036
8	0,50	0,52	0,43	0,43	0,054
Gesamt:	2,73	2,69	5,22	3,84	0,160

Nach Tötung der Versuchstiere finden sich in einzelnen Darmabschnitten relativ hohe Mengen ungespaltenen Esters. Der größte Anteil befindet sich im Jejunum-Ileum und im Enddarm.

Bei der intramuskulären Gabe allerdings ist die Wiederfindung in den Darmteilen mit Werten unter 1 % sehr gering.(Tab. 12).

Tabelle 12

In den Darmabschnitten der Ratte zurückbestimmte Radioaktivität nach Gabe von 3 μ c = 10 mg Testosteron-palmitat

Darmabschnitt	p.o.	p.o.	p.o.	p.o.	i.m.
Magen	1,11	0,25	7,36	0,72	0,150
Duodenum	0,21	1,09	0,32	0,22	0,076
Jejunum-Ileum	5,67	35,40	7,84	4,18	0,970
Enddarm	<u>16,08</u>	<u>0,08</u>	<u>19,39</u>	<u>21,15</u>	<u>0,680</u>
Gesamt:	23,07	36,82	34,91	26,27	1,876

2.3. Hydroxyprogesteron-palmitat

Bei oraler Applikation von $39,4 \mu\text{c} = 20 \text{ mg}$ Hydroxyprogesteron-palmitat werden ähnlich wie beim Testosteron-palmitat nur geringe Estermengen verseift. So liegt die stündliche Spaltungsrate bei etwa $0,030 \%$, so daß nach 8 Stunden insgesamt $0,23 \%$ des Esters hydrolysiert sind.

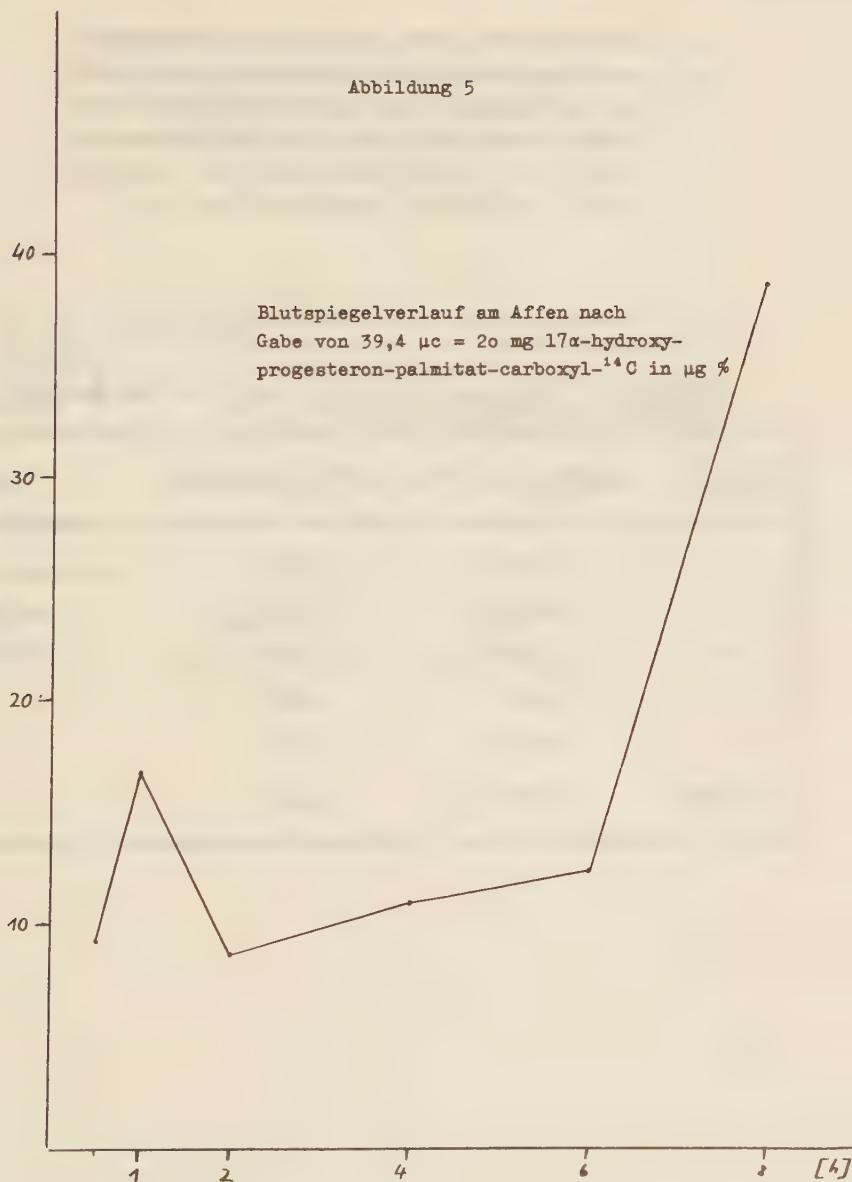
Nach intramuskulärer Gabe sind die Ergebnisse ähnlich. Die stündlich gespaltene Estermenge erreicht Werte von etwa $0,015$ bis $0,030 \%$ der Eingabe. Nach 8 Stunden sind $0,18 \%$ verseift. Der Blutspiegel erreicht schon nach 30 Minuten mit $9,26 \mu\text{g} \%$ einen relativ hohen Wert und steigt innerhalb 8 Stunden bis auf $38,88 \mu\text{g} \%$ an (Tab. 13, Abb. 5).

Tabelle 13

Blutspiegel und abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von 39,4 μc =
20 mg Hydroxyprogesteron-palmitat am Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel ($\mu\text{g } \%$)	Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ ($\%$ d.Eingabe)	
	i.m.	i.m.	p.o.
0,5	9,26		
1	16,69	0,030	0,030
2	8,80	0,015	0,028
3		0,030	0,030
4	11,05	0,015	0,028
5		0,015	0,030
6	12,49	0,030	0,030
7		0,015	0,028
8	38,88	0,030	0,028
Gesamt:		0,180	0,230

Abbildung 5



Auch bei der Ratte sind die Verseifungsgeschwindigkeiten sowohl bei oraler als auch bei intramuskulärer Applikation nicht höher, sondern erreichen nach 8 Stunden Werte von etwa 0,14 %. Pro Stunde werden ca. 0,013 bis 0,019 % des Esters gespalten (Tab. 14).

Tabelle 14
Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von 4 μc = 2,03 mg Hydroxyprogesteron-palmitat an der Ratte

Zeit in Stunden	Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ i.m.	in % der Eingabe p.o.
1	0,025	0,025
2	0,013	0,013
4	0,038	0,038
6	0,026	0,026
8	0,038	0,038
Gesamt:	0,14	0,14

Die auf ungespaltenen Ester untersuchten Darmteile enthalten nach oraler Verabreichung hohe Anteile der Verbindung, dagegen nach intramuskulärer Gabe nur geringe Mengen (Tab. 15).

Tabelle 15
In den Darmabschnitten der Ratte zurückbestimmte Radioaktivität nach Gabe von $4 \mu\text{c} = 2,03 \text{ mg}$ Hydroxyprogesteronpalmitat

Darmteil	p.o.	i.m. (% d. E.)
Magen	0,14	0,023
Duodenum	0,14	0,028
Jejunum-Ileum	1,61	0,310
Enddarm	<u>37,17</u>	<u>0,410</u>
Gesamt:	39,06	0,771

2.4. Metenolon-oenanthat

Der Affe hat nach oraler Applikation von $20 \mu\text{c} = 16,66 \text{ mg}$ Metenolon-oenanthat ca. 50 % des Esters nach 8 Stunden gespalten. Die stündlich verseifte Menge schwankt zwischen 1 und 17 % der Eingabe. Der Blutspiegel steigt relativ schnell an, erreicht nach 4 Stunden mit $96,0 \mu\text{g} \%$ sein Maximum und fällt dann langsam ab. Nach 8 Stunden ist noch ein Blutspiegel von $88 \mu\text{g} \%$ vorhanden.

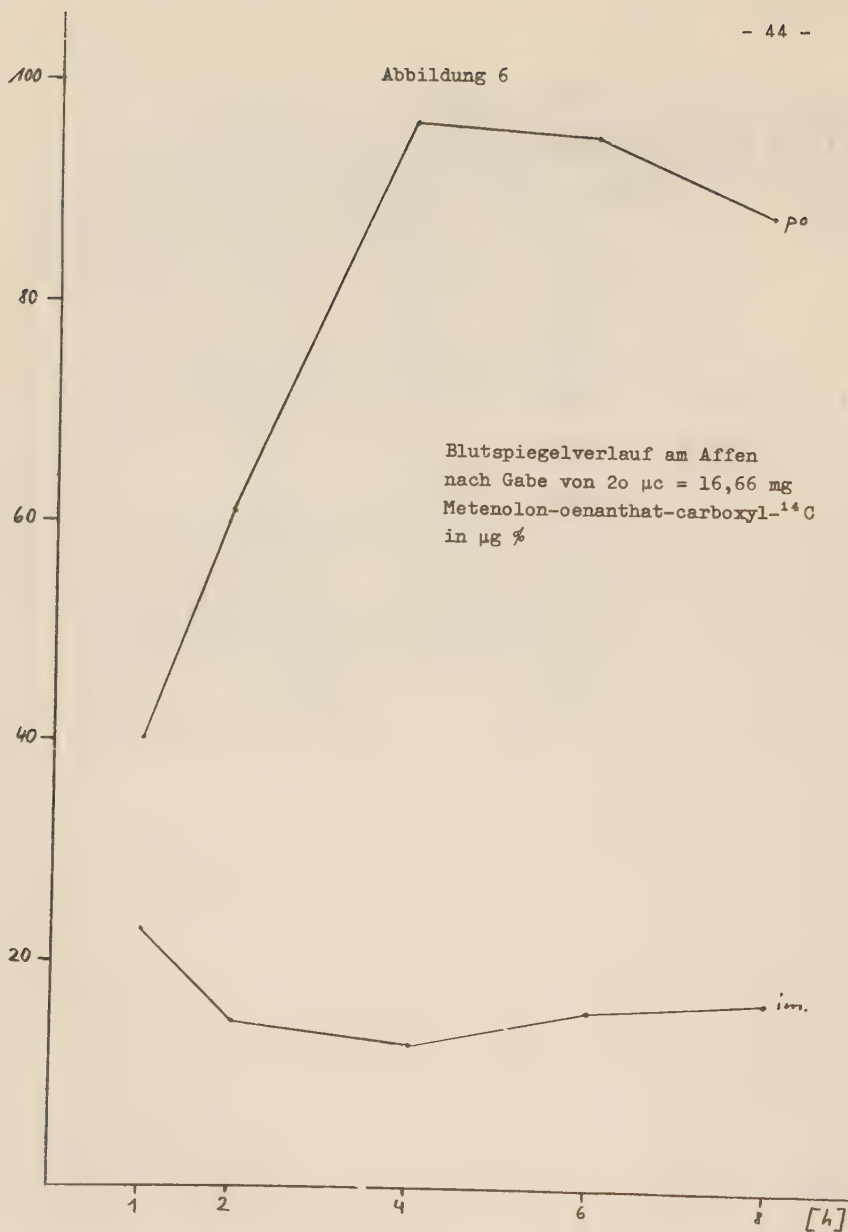
Wird die gleiche Menge des Esters intramuskulär injiziert, liegt die stündliche Verseifungsrate bei etwa 0,25 %. Nach 8 Stunden sind insgesamt 2,31 % des Esters gespalten. Der Blutspiegel hat nach einer Stunde das höchste Niveau mit $23,0 \mu\text{g} \%$ und pendelt sich langsam auf einen Wert von $15 \mu\text{g} \%$ ein (Tab. 16, Abb. 6).

Tabelle 16

Blutspiegel und abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von 20 μc =
16,66 mg Metenolon-oenanthat am Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel ($\mu\text{g } \%$)		Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ ($\%$ d.Eingabe)	
	i.m.	p.o.	i.m.	p.o.
1	23,0	40,0	0,26	1,05
2	15,0	61,0	0,26	1,60
4	13,0	96,0	0,69	14,71
6	16,0	95,0	0,58	34,18
8	17,0	88,0	0,52	1,65
Gesamt:			2,31	53,19

Abbildung 6



Die Ratte verseift nach oraler Gabe von $5 \mu\text{c} = 4,61 \text{ mg}$ innerhalb von 24 Stunden ca. 60 %. In den ersten 4 Stunden des Versuchs liegt die Verseifungsrate recht hoch bei ca. 35 % und fällt dann auf ca. 1 % pro Stunde ab.

Gibt man den Ester intramuskulär, spaltet die Ratte in 24 Stunden etwa die fünf bis zehnfache Menge im Vergleich zum Affen. So werden nach 24 Stunden insgesamt 21,67 bzw. 11,70 % der Eingabe verseift (Tab. 17)

Tabelle 17
Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von $5 \mu\text{c} = 4,61 \text{ mg}$ Metenolon-
oentanthat an der Ratte

Zeit in Stunden	Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ (% d. Eingabe)			
	i.m.	i.m.	p.o.	p.o.
4	18,50	7,70	38,00	29,15
8h	2,90	1,60	14,60	6,40
24	0,27	2,40	6,50	22,50
Gesamt:	21,67	11,70	59,10	58,67

Die nach Tötung der Versuchstiere durchgeführte Untersuchung der Darmabschnitte ergibt nur geringe Mengen der unverseiften Verbindung. Bei oraler Verabreichung ist die Wiederfindung insgesamt etwas höher als nach intramuskulärer Gabe. Die größten Mengen werden wie auch schon bei vorangegangenen Untersuchungen im Jejunum-Ileum und Enddarm gefunden (Tab. 18).

Tabelle 18

In den Darmabschnitten der Ratte zurückbestimmte Radioaktivität nach Gabe von $5 \mu\text{c} = 4,61 \text{ mg Metenolon-oenanthat}$

Darmabschnitt	p.o.	p.o.	i.m.	i.m.
Magen	1,95	0,55	0,22	0,22
Duodenum	0,38	0,50	0,13	0,10
Jejunum-Ileum	1,64	1,43	0,29	0,25
Enddarm	<u>5,64</u>	<u>0,85</u>	<u>0,30</u>	<u>0,42</u>
Gesamt:	9,61	3,33	0,94	1,19

2.5. Cyproteron-acetat

Werden dem Affen $20 \mu\text{c} = 4 \text{ mg}$ Cyproteron-acetat oral gegeben, so werden bei einer stündlichen Verseifungsrate von durchschnittlich $0,15 \%$ nach 8 Stunden $1,36 \%$ der gegebenen Estermenge gespalten. Der Blutspiegel erreicht nach einer Stunde einen Wert von $4,2 \mu\text{g} \%$ und steigt nur sehr langsam bis auf $5,78 \mu\text{g} \%$ an.

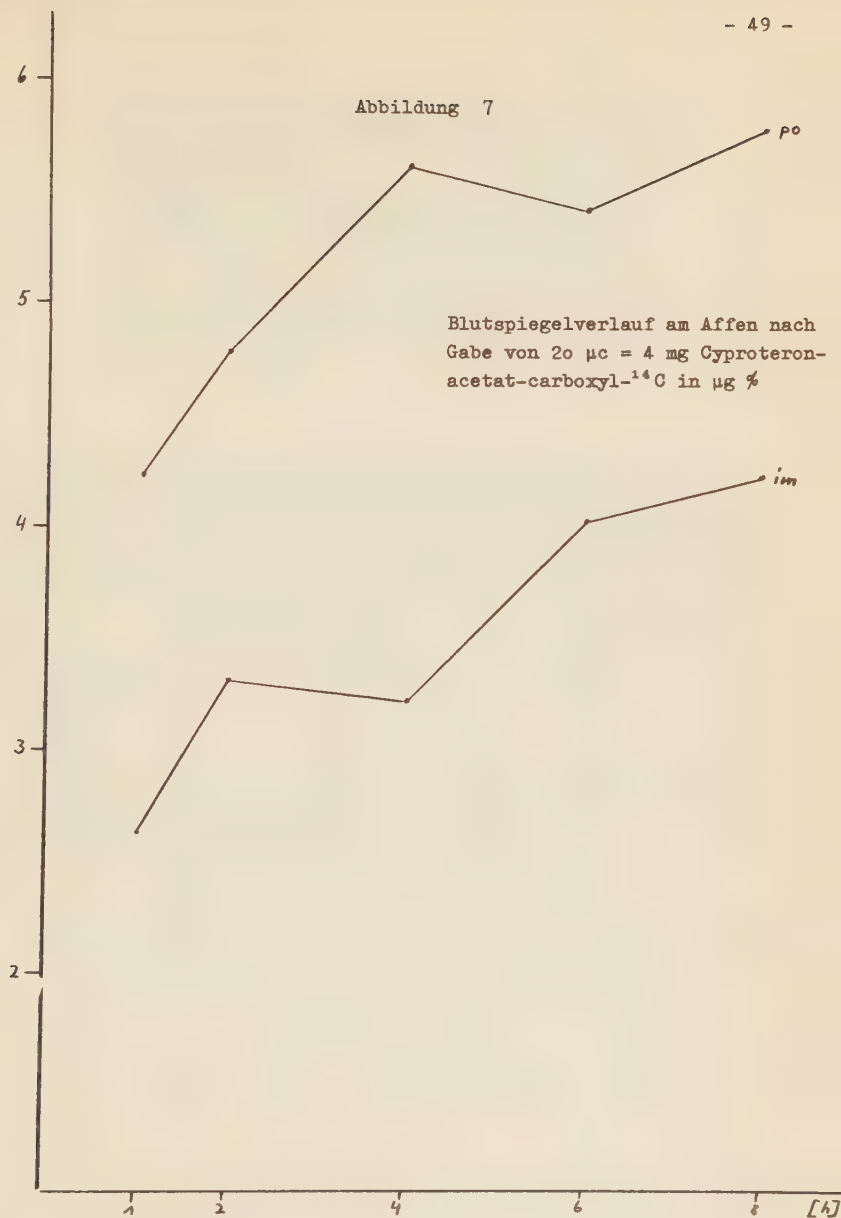
Wir die gleiche Estermenge intramuskulär verabreicht, so werden nur unerheblich geringere Estermengen gespalten. Bei einer stündlichen Verseifungsrate von $0,13 \%$ liegt die insgesamt nach 8 Stunden hydrolysierte Menge bei $0,94 \%$ der Eingabe. Der Blutspiegel unterscheidet sich ebenfalls kaum von den Werten bei oraler Applikation. Nach 1 Stunde ist ein Wert von $2,6 \mu\text{g} \%$ erreicht. Bei nur sehr geringer Zunahme steigt er in der Versuchszeit bis auf $4,2 \mu\text{g} \%$ an (Tab. 19, Abb.7).

Tabelle 19

Blutspiegel und abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von 20 μc =
4 mg Cyproteron-acetat am Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel ($\mu\text{g } \%$)		Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ ($\% \text{ d.E.}$)	
	p.o.	i.m.	p.o.	i.m.
1	4,20	2,6	0,15	0,13
2	4,76	3,3	0,18	0,16
4	5,60	3,2	0,29	0,26
6	5,40	4,0	0,37	0,23
8	5,78	4,2	0,37	0,16
Gesamt:			1,36	0,94

Abbildung 7



Die Ratte verseift nach oraler Gabe von $5 \mu\text{c} = 1 \text{ mg}$ des Cyproteron-acetats im gleichen Zeitraum die zwei- bis dreifache Menge. So werden innerhalb von 8 Stunden 3,20; 2,20; 2,66 bzw. 4,86 % der Eingabe gespalten und als $^{14}\text{CO}_2$ abgeatmet.

Bei subcutaner Verabreichung hydrolysiert die Ratte innerhalb von 8 Stunden ca. 1,30 % (Tab. 20)

Tabelle 20

Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von $5 \mu\text{c} = 1 \text{ mg}$ Cyproteron-acetat an der Ratte

Zeit in Stunden	Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ in % der Eingabe					
	s.c.	s.c.	p.o.	p.o.	p.o.	p.o.
1	0,11	0,09	0,10	0,15	0,17	0,17
2	0,14	0,10	0,31	0,27		0,37
4	0,18	0,12	0,38	0,24	0,58	0,50
6	0,27	0,17	0,55	0,32	0,33	0,61
8	0,67	0,82	1,86	1,24	1,58	3,21
Gesamt	1,35	1,29	3,20	2,20	2,66	4,86

Bei der Untersuchung der Darmabschnitte auf unverseiftes Material enthalten Jejunum-Ileum und Enddarm sowohl nach oraler als auch nach subcutaner Gabe die größten Estermengen. Nach oraler Applikation sind relativ viel höhere Konzentrationen nachzuweisen als nach subcutaner (Tab. 21).

Tabelle 21

In den Darmabschnitten der Ratte zurückbestimmte Radioaktivität nach Gabe von 5 μ c = 1 mg Cyproteron-acetat

Darmabschnitt	p.o.	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.
Magen	0,89	2,06	1,75	0,45	0,35
Duodenum	0,87	1,11	1,96	0,46	0,51
Jejunum-Ileum	6,56	15,78	14,53	4,02	5,28
Enddarm	37,10	18,72	27,30	4,13	6,50
Gesamt:	45,42	37,67	45,54	9,06	12,64

3. Modellsubstanzen

Um die Richtigkeit der Methodik zu beweisen und um zu zeigen, daß aktives CO_2 nach ^{14}C -Markierung der Carboxyl-Gruppe einer organischen Säure abgeatmet wird, werden fernerhin Exhalationsmessungen am gleichen Tiermaterial durchgeführt, denen Natrium-valerianat verabreicht worden ist. Da außerdem der Abbauweg von unilable Glucose bekannt ist, scheint es mir notwendig und nützlich, für die in meinen Experimenten verwandten Tierarten die zeitabhängige Abbaurate als Stoffwechselleistung darzustellen.

3.1. Natrium-valerianat

Nach oraler Gabe von $20 \mu\text{c} = 0,84 \text{ mg}$ Natrium-valerianat veratmet der Affe innerhalb von 8 Stunden 27,79 % als $^{14}\text{CO}_2$. Der Blutspiegel zeigt keinen markanten Verlauf, sondern pendelt um einen Wert von $1,50 \mu\text{g} \%$.

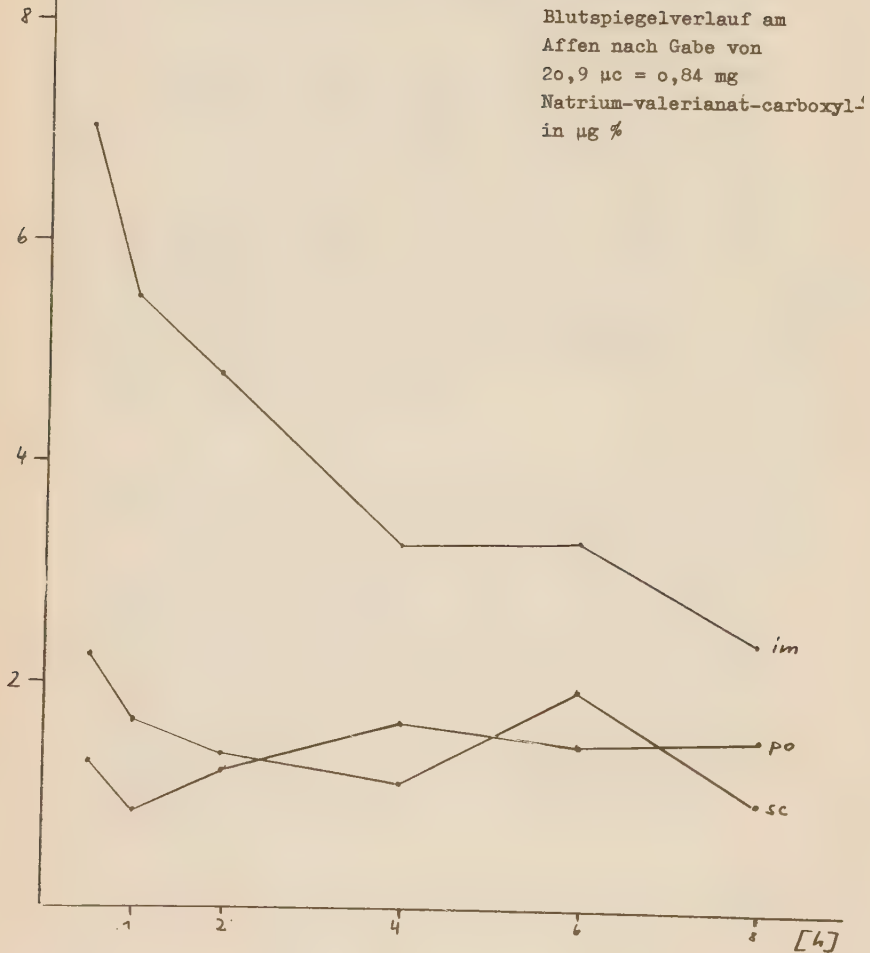
Wird die gleiche Menge Valerianat intramuskulär injiziert, sind nach 8 Stunden insgesamt 39,50 % als $^{14}\text{CO}_2$ ausgeschieden. Der Blutspiegel erreicht mit $7,03 \mu\text{g} \%$ seinen Maximalwert schon nach 30 Minuten, fällt anfangs schneller, gegen Ende der Untersuchung langsamer bis auf $2,34 \mu\text{g} \%$. Gibt man das Natrium-valerianat subcutan werden innerhalb von 8 Stunden 42,01 % veratmet. Der Blutspiegel steigt nur wenig an. Nach 30 Minuten beträgt er $2,23 \mu\text{g} \%$ und fällt während der Versuchsdauer langsam bis auf $1 \mu\text{g} \%$ ab (Tab. 22, Abb. 8).

Tabelle 22

Blutspiegel und abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von 20 μc =
0,84 mg Natrium-valerianat am Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel ($\mu\text{g } \%$)			Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ ($\% \text{ d.E.}$)		
	p.o.	i.m.	s.c.	p.o.	i.m.	s.c.
0,5	1,30	7,03	2,23			
1	0,83	5,51	1,70	0,07	0,09	0,08
2	1,31	4,73	1,34	0,10	0,05	0,16
4	1,70	3,27	1,16	0,62	0,11	1,10
6	1,51	3,34	2,00	2,63	2,15	3,83
8	1,58	2,34	1,00	24,38	37,14	36,84
Gesamt:				27,79	39,54	42,01

Abbildung 8



Die Ratte dagegen veratmet in der gleichen Zeit prozentual die doppelte Menge an aktivem CO_2 . So werden nach oraler Verabreichung von $3,35 \mu\text{c} = 0,135 \text{ mg}$ Valerianat nach 8 Stunden insgesamt 72,10; 82,90 bzw. 77,40 % der Eingabe als $^{14}\text{CO}_2$ ausgeschieden.

Bei subcutaner Gabe unterscheidet sich die Abatmungsrate kaum von der bei oraler Applikation. Nach 8 Stunden sind 73,34; 76,90 bzw. 71,99 % der Eingabe abgeatmet (Tab. 23).

Tabelle 23

Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von $3,35 \mu\text{c} = 0,135 \text{ mg}$ Natriumvalerianat an der Ratte

Zeit in Stunden	Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ (% der Eingabe)					
	p.o.	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.	s.c.
1	58,00	45,00	36,00	61,00	62,00	54,00
2	7,50	22,00	14,50	10,06	8,90	10,08
4	2,90	6,40	8,20	2,80	2,70	3,00
6	1,30	3,70	5,60	1,80	1,15	1,50
8	2,40	5,80	13,10	3,10	2,40	2,70
Gesamt:	72,10	82,19	77,40	79,34	76,90	71,99

Die nach Tötung der Versuchstiere vorgenommene Untersuchung der Darmabschnitte auf verbliebene Aktivität ergibt sowohl bei oraler als auch bei subcutaner Verabreichung der Valeriansäure nur Werte zwischen 0,1 und 3 % der Eingabe (Tab. 24)

Tabelle 24

In den Darmabschnitten der Ratte zurückbestimmte Radioaktivität nach Gabe von $3,35 \mu\text{c} = 0,135 \text{ mg}$ Natriumvalerianat

Darmabschnitt	p.o.	p.o.	p.o.	s.c.	s.c.	s.c.
Magen	2,12	0,34	2,92	0,21	0,57	0,26
Duodenum	0,82	0,41	0,86	0,31	0,61	0,25
Jejunum-Ileum	2,28	1,13	1,94	1,05	1,49	0,98
Enddarm	1,14	0,81	1,24	0,89	1,16	1,00
Gesamt:	6,36	2,69	6,96	2,46	3,83	2,49

3.2. Glucose

Appliziert man den Affen per os Glucose in einer Dosis von 25,73 μ c =werden innerhalb von 8 Stunden 42,81 bzw. 41,30 % als $^{14}\text{CO}_2$ abgeatmet. Der Blutspiegel erreicht nach einer Stunde mit 3,02 % der Eingabe pro 100 ml sein Maximum und fällt dann langsam auf einen Wert von 0,50 % /100 ml ab.

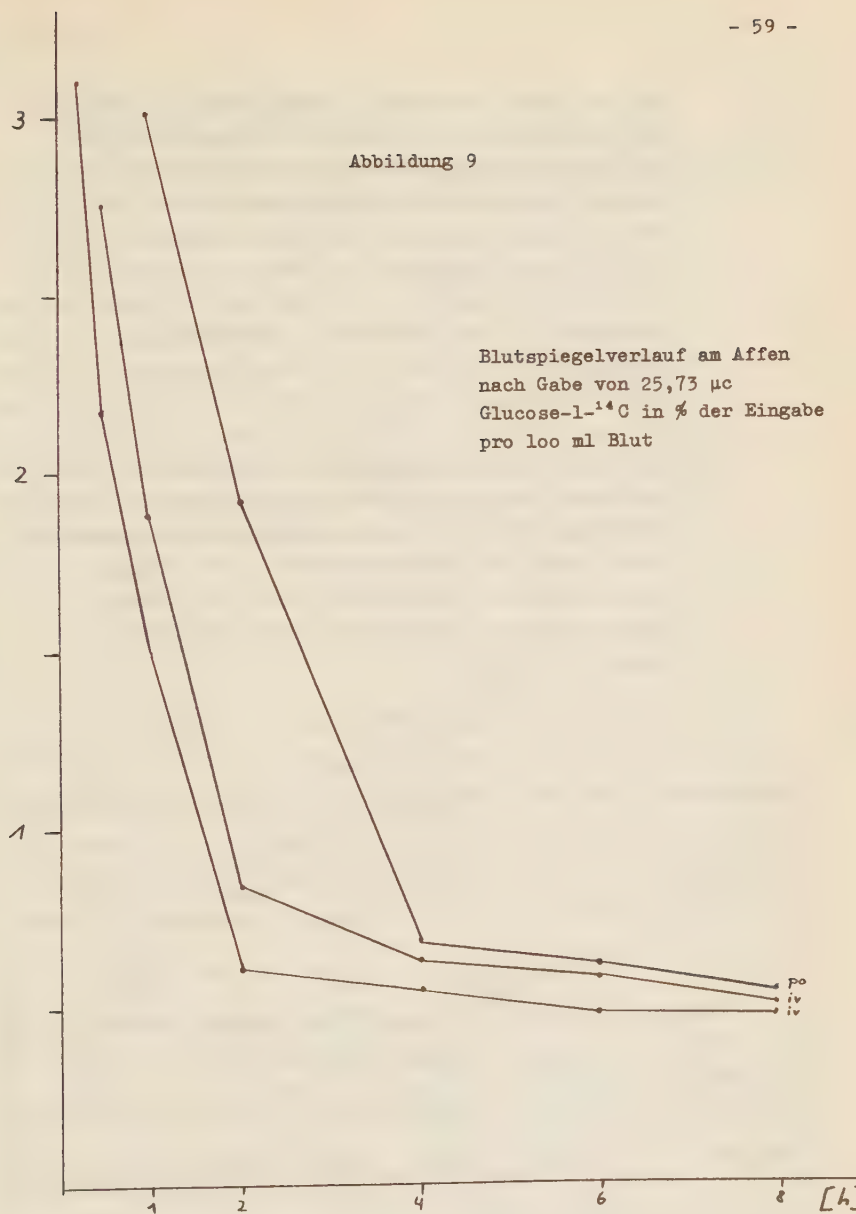
Nach intravenöser Verabreichung werden insgesamt 59,50 bzw. 53,90 % veratmet. Hier werden initial aus verständlichen Gründen die höchsten Blutspiegelwerte mit 3,10 bzw. 2,75 %/100 ml gemessen. Gegen Ende der Untersuchung haben die Blutspiegelwerte etwa das gleiche Niveau wie bei der oralen Gabe erreicht (Tab. 25, Abb. 9).

Tabelle 25

Blutspiegel und abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von 25,73 μC Glucose am Affen

Zeit in Stunden	Blutspiegel % der Eingabe/100 ml		Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ in % der Eingabe			
	p.o.	p.o.	i.v.	i.v.	p.o.	i.v.
0,25			3,10			
0,5			2,19	2,75		
1	3,02	0,20		1,89	3,58	2,70
1,5			1,50			3,55
2	1,94	0,26				2,45
3,5			0,64	0,85	3,58	4,50
4	0,69	0,80		0,64		3,30
6	0,58	0,50	0,52	0,62	13,00	10,04
7			0,49		17,80	12,10
8	0,50	0,45	0,48	0,52	13,00	20,35
					4,85	11,90
Gesamt:					42,81	19,00
					41,30	22,05
					59,50	53,90

Abbildung 9



An der Ratte werden die Untersuchungen nur für die Dauer von 4 Stunden durchgeführt, da die Wiederfindung schon nach dieser Zeit relativ große Werte ergibt. Nach oraler Gabe von 4 μ c Glucose veratmet die Ratte 54,06 % in 4 Stunden als $^{14}\text{CO}_2$.

Gibt man die gleiche Menge intravenös, so erhält man Werte von 54,14 bzw. 50,18 % der Eingabe.

Bei der rectalen Applikation sind in der gleichen Zeit 41,08 bzw. 40,96 % ausgeschieden. Bei allen vorgenommenen Applikationsarten sind die Abatmungswerte in den ersten beiden Stunden am größten. In der 4. Stunde werden nur noch Mengen von etwa 5 % veratmet (Tab. 26)

Tabelle 26

Abgeatmetes $^{14}\text{CO}_2$ nach Gabe von 4 μ c Glucose an der Ratte

Zeit in Stunden	p.o.	i.v.	i.v.	rectal	rectal
1	27,00	31,15	28,22	14,94	13,52
2	16,40	11,80	13,91	14,32	13,51
3	6,58	6,70	5,50	7,50	8,20
4	4,21	4,28	2,45	4,68	5,91
Gesamt:	54,06	54,14	50,18	41,08	40,96

Nach HUEBENER und STAIB (12) läßt sich der Unterschied der Abatmungsrate von TOH durch die Aktivität der 17 β -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenase erklären.

Beim Vergleich der pharmakokinetischen Daten fallen die wesentlich höheren Blutspiegelwerte beim Oestradiol-17 α -³H auf. Da nach HART (14) beide Verbindungen aktiv transportiert werden und die Resorptionsrate bei beiden Steroiden nach 30 Minuten etwa 60 % beträgt (15), ist wohl auch hier die unterschiedliche Markierung 17 α -7 α als Grund für differente Blutspiegelwerte anzusehen.

Bei der Exhalation der Modellsubstanzen Natrium-valerianat und Glucose kann gezeigt werden, daß das verwandte Tiermaterial innerhalb von 4 Stunden ca. 50 % und innerhalb von 8 Stunden ca. 60 - 80 % der gegebenen Menge abatmet. Diese Menge ist als Maximum der Stoffwechselleistung anzusehen, so daß bei Verabreichung von Estern die Abatmungsrate von ¹⁴CO₂ zwangsläufig geringer sein muß, da der Metabolisierung zum ¹⁴CO₂ noch der biochemische Prozeß der Esterspaltung vorgeschaltet ist.

Um die unterschiedlichen Ergebnisse der Verseifungsraten eines Steroidesters bei oraler und parenteraler Applikation diskutieren zu können, ist eine Vorbemerkung zur parenteralen Gabe nötig.

Nach BELLMAN (16) erfolgt die Freigabe einer Verbindung nach parenteraler Verabreichung aus einem Injektionsdepot nach einer Reaktionskinetik 1. Ordnung. Diese Feststellung weist auf eine sehr protrahierte Freisetzung hin. Fernerhin ist beim Uebergang der Verbindung vom Injektionsort zu berücksichtigen, daß abhängig von der chemisch-physikalischen Konstellation des Moleküls unterschiedliche Kompartimente in unter-

schiedlicher Konzentration beladen werden können (17). Entsprechend der Stoffwechselaktivität der verschiedenen Gewebe muß deshalb mit unterschiedlichem pharmakokinetischen Verhalten gerechnet werden.

Wird die zeitabhängige Verseifungsrate in Abhängigkeit der Esterkonfiguration untersucht, so können von den eingesetzten Verbindungen nur 17 α -Hydroxyprogesteron-palmitat und Testosteron-17 β -palmitat miteinander verglichen werden. Nach HUEBENER und SCHMIDT nimmt der Alkohol nur Einfluß auf die Verseifbarkeit durch das C-Atom, das die an der Esterbildung beteiligte OH-Gruppe trägt (18). Eine hinreichende Erklärung für die um den Faktor 20 größere Verseifungsrate beim Testosteron-palmitat scheint die unterschiedliche Bindung in 17-Stellung zu sein. So liegt bei 17 α -Hydroxyprogesteron eine sicher für die Esterasen sterisch ungünstigere α -Bindung vor, die durch eine Seitenkette gehindert wird.

Die bei beiden Verbindungen nach parenteraler Verabreichung durchgeführten Blutspiegeluntersuchungen zeigen, daß die schon oben erwähnte Reaktionskinetik nach BELLMAN (16) richtig sein muß. Denn nur so läßt sich erklären, daß die Blutspiegelwerte ansteigen und der höchste Wert während der Versuchsdauer erst am Ende der Untersuchung erreicht wird.

Beim Vergleich der Verseifungsraten nach oraler und parenteraler Verabreichung wird deutlich, daß eine optimale Verseifung nur nach oraler Gabe der Verbindung stattfindet. Unabhängig von der Konstitution des Esters kann dieses Ergebnis immer wieder beobachtet werden. Die naheliegende Vermutung, daß sich im Darm steroid-spezifische Esterasen befinden, die sich in ihrer Aktivität von der der Serumesterasen unterscheiden, muß verneint werden. HART (19) hat nachgewiesen, daß

das im Darm befindliche Mucosaprotein sowohl Tripalmitin als auch Steroidfettsäureester verseift. Als Ursache für die geringe Verseifungsrate ist auch hier die von BELLMAN (16) beschriebene Reaktionskinetik 1. Ordnung anzusehen.

In einer vergleichenden Betrachtung aller oral verabreichten Steroidester kann gezeigt werden, daß das Acetat schlecht, das Valerianat und Oenanthat sehr gut und das Palmitat fast überhaupt nicht verseift werden. Die Behauptung von HUEBENER, SCHMIDT (20) und HART (21), daß die Spaltungsgeschwindigkeit von der Konstitution des jeweiligen Esters abhängig ist, kann bestätigt werden. Die hier gefundenen Ergebnisse stehen auch nicht im Widerspruch zu der 1954 von HUEBENER und SCHMIDT (22) gemachten Beobachtung, daß am besten die Ester von Fettsäuren mit 4 bis 12 C-Atomen gespalten werden.

Aus den Blutspiegelwerten lassen sich keine pharmakokinetischen Aussagen über den Verbleib der Steroidester machen, es sei denn, man würde den Blutspiegel der Vena portae bei doppelt etikettierten Verbindungen untersuchen.

Nach GERHARDS (23) erscheint intraduodenal verabreichtes Metenolon-acetat in der Pfortader zu 80 bis 95 % als freier Alkohol. Da die Ester jedoch im allgemeinen gegenüber ihren Stammverbindungen höhere Resorptionsraten aufweisen (24), kann nicht gesagt werden, ob Ester allein oder Ester und Alkohol nebeneinander nach der Resorption auftreten. Eine Differenzierung in Ester und Alkohol aus Blutspiegelwerten läßt sich ohnehin nicht vornehmen, da bei der Radioaktivitätsbestimmung nicht einzelne Metabolite sondern nur Gesamtaktivität gemessen werden können; d.h., daß sich Ester, Ester neben Alkohol, freie Fettsäure und markiertes CO₂ im peripheren Blut befinden können, die nur als Summe der Einzelaktivitäten erfaßt werden.

Allerdings kann ergänzend zu Untersuchungen von KOLB (34), der die Pharmakokinetik von Cyproteron-acetat-1.2 α -methylen-³H am Menschen untersucht hat - bei der Unterstellung, daß sich Affe und Mensch in ihrem Resorptionsverhalten ähneln - festgestellt werden, daß es sich bei der im peripheren Blut gemessenen Radioaktivität nach Gabe von Cyproteron-acetat-carboxyl-¹⁴C um Acetat handeln muß, denn bei den Untersuchungen von KOLB mit "Kern-markiertem" Cyproteron-acetat ließ sich im peripheren Blut keine Radioaktivität nachweisen.

In den von KOLB (35) durchgeführten Untersuchungen von Oestradiol-valerianat-6.7-³H konnte innerhalb der ersten zwei Stunden ebenfalls keine Radioaktivität im peripheren Blut gemessen werden. Das heißt, daß bei den mit Oestradiol-valerianat-carboxyl-¹⁴C vorgenommenen Untersuchungen, bei denen schon innerhalb der ersten 30 Minuten ein relativ hoher Blutspiegel erreicht wird, sich ebenfalls die Valeriansäure und nicht der Ester im peripheren Blut befinden müssen.

Bei einem Vergleich der Blutspiegelwerte von Testosteron-7 α -³H und Testosteronpalmitat wird ein Unterschied von 4 Zehnerpotenzen deutlich. Es muß daher angenommen werden, daß die Metaboliten von freiem Testosteron - Aetiocholan-3 α -ol-17on und Δ 4-Androsten-3.17dion, die beim Testosteronpalmitat durch die geringe Spaltungsrate des Esters nicht gebildet werden können - stärker polar, d.h. weniger lipoid-löslich sind und sich daher besser im Blut und Extracellulär-raum verteilen.

In einer ähnlichen Betrachtung der Blutspiegel beim Oestradiol-17 α -³H und Oestradiolvalerianat kann ein so signifikanter Unterschied nicht nachgewiesen werden. Hier wird einerseits schon nach kurzer Zeit das Tritium zu TOH oxydiert, andererseits erscheint die aktive Valeriansäure bedingt durch die hohe Spaltungsrate des Valeriansäureesters schon nach Minuten

im peripheren Blut, d.h. daß Vermutungen über den Verbleib des Grundkörpers bei dieser Markierung nicht angestellt werden können.

Durch die nach parenteraler Gabe protrahierte Freigabe einer Verbindung kann erwartet werden, daß bei der Rückbestimmung unverseifter Ester in den Darmabschnitten nur geringe Mengen nachgewiesen werden. Die gefundenen Ergebnisse sichern die Behauptung.

Bei vergleichenden Betrachtungen über die Estermengen, die nach oraler Verabreichung der Verbindungen in den Darmabschnitten verblieben sind, fällt der hohe Gehalt unverseifter Substanz in den distalen Darmabschnitten auf. Als Ursache kann hierfür einerseits die Veränderung des Darmepithels von proximal nach distal angesehen werden. Denn die Anzahl Kerckring'scher Falten, Villi und Microvilli verringert sich ständig vom Duodenum zu den nachfolgenden Darmabschnitten (25), (26), (29). Die Folge dieser anatomischen Gegebenheit muß eine Herabsetzung der biochemischen Reaktion sein. Andererseits liegt gerade bei Steroidestern mit geringer Verseifungsrate, bei denen gleichzeitig Estermengen von über 30 % in den distalen Darmabschnitten wiedergefunden werden, die Vermutung nahe, daß nur eine rein mechanische Anhäufung durch den sich distalwärts bewegenden Speisebrei stattfindet. Diese Vermutung würde auch die Behauptung von HART (27) stützen, daß der eigentliche Parameter der Resorptionsgeschwindigkeit die Verseifungsgeschwindigkeit ist. Es widerspricht allerdings der Tatsache, daß gestagenwirksame Verbindungen wie Chlormadinonacetat u.ä. nur als Ester wirksam sind und als solche resorbiert werden (36).

Abschließend ist die unterschiedliche Verseifungsrate bei Affen und Ratten nach Gabe des gleichen Steroidesters zu betrachten. Hierbei kann gezeigt werden, daß die Ratte im gleichen Zeitraum prozentual um den Faktor 2 bis 10 größere Mengen Esters verseift als der Affe. Nach HUEBENER und SCHMIDT (29) ist die Esteraseaktivität der Ratte größer als die des Menschen und die des Rindes. Es kann angenommen werden, daß sich die Esteraseaktivität des Affen ähnlich der des Menschen verhält.

V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die zeitabhängige Verseifungsrate von Metenolon-oenanthat, Cyproteron-acetat, 17 α -Hydroxyprogesteron-palmitat, Testosteron-palmitat und Oestradiol-valerianat untersucht,

Fernerhin werden Glucose, Natrium-valerianat, Testosteron und Oestradiol als Modellsubstanzen in die Untersuchungen mit einbezogen.

Durch Veratmung der Modellverbindungen Glucose und Natrium-valerianat wird das Maximum der Stoffwechselleistung auf 60 - 80 % der Eingabe limitiert.

Die Esterspaltung in Abhängigkeit der Esterkonfiguration wird am Beispiel des Testosteron-palmitats und des 17 α -Hydroxyprogesteron-palmitats nachgewiesen. Hieran wird die Verminderung der Verseifungsrate durch Vorhandensein einer am gleichen C-Atom befindlichen Seitenkette deutlich gemacht.

In einem Vergleich der Verseifung von Steroidestern nach oraler und apreteraler Gabe kann eindeutig gezeigt werden, daß optimale Verseifung nur nach oraler Verabreichung der Verbindung zu erwarten ist.

Bei vergleichender Betrachtung aller oral verabreichten Steroidhormonester läßt sich sehr gute Verseifbarkeit des Valerianats und Oenanthats nachweisen. Ferner werden die schlechte Verseifungsrate des Acetats und die kaum meßbare Spaltungsrate der Palmitatester dargelegt.

Signifikante pharmakokinetische Daten können aus den Blutspiegelwerten nur dann gewonnen werden, wenn wie bei den Verbindungen Oestradiol-valerianat und Cyproteron-

acetat gleichzeitig Untersuchungen mit radioaktiver Markierung im Sterangerüst vorliegen, so daß eine Schlußfolgerung auf die im Blut befindlichen Metabolite möglich wird.

VI. Literaturverzeichnis

- (1) BUTENAND, A. Zschrft. physiol. Chem. 191 (1930) 140
- (2) BUTENAND, A.
TSCHERNING, K. Hoppe-Seylers Zschrft. physiol. Chem. 229 (1934) 185
- (3) HOHLWEG, W. Ueber die protrahierte Wirkung von Fettsäureestern des Follikelhormons Vit. u. Horm. 6 : 129 (1954)
Ref.: Ber. ges. Physiol. 173, 2/3 : 151 (1955)
- (4) MEIER, R.
DESAULLES, F. Erreichung eines konstanten Wirkungsniveaus durch aufeinanderfolgende Dosen von Testosteronestern Arch.exper. Path. u. Pharmakol. 230, (1957) 73 - 79
Ref. i.: Ber. Physiologie 192, 1 : 118 (1957)
- (5) JUNKMANN, K.
WITZEL, H. Zschrft. f. Vit.-Horm.- u. Fermentforschung, Sonderdruck aus Band IX (1957) Heft 1 - 2 S. 117
- (6) JUNKMANN, K. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 223 (1954) 244
- (7) JUNKMANN, K.
WITZEL, H. Monographs on Therapy 3, Suppl. The Squibb Institute for Med. Res. New Brunswick, New Jersey 1958
- (8) DEANESLY, R.
PARKES, A.S. Lancet. 235 (1938) 606
Proc. Roy. Soc. (London) 124 (1937) 279
- (9) HAMBURGER, C. Schweiz. med. Wschr. 81 (1951) 995
- (10) HUEBENER, H.J.
STAIB, W.H. Biochemie der Nebennierenrindenhormone (1965) S. 95
- (11) STAIB, W.H.
DOENGES, K.
TELLER, W. Hoppe-Seylers Zschrft. f. physiol. Chem. 324 (1961) 32
- (12) HUEBENER, H.J.
STAIB, W.H. Biochemie der Nebennierenrindenhormone (1965) S. 87

- (13) HART, J.G. Untersuchungen zur enteralen Resorption von Pharmaka in Abhängigkeit von Molekülstruktur und galenisch-technologischen Hilfsmitteln unter besonderer Berücksichtigung der Steroidresorption (1967) S. 24
- (14) HART, J.G. Titel wie oben (1967) S. 26
- (15) RUMMEL, W.
FORTH, W. Aktiver Transport und enterale Resorption
Pharm. Ztg. 28 (1964) 1053
- (16) BELLMAN, R.
KALABA, R.
JACQUEZ, J.A. Some mathematical aspects of Chemotherapy-II: The distribution of a drug in the body
Bulletin of mathematical biophysics Vol. 22, (1960) 309 - 322
- (17) KOLB, K.H. Private Mitteilung
- (18) HUEBENER, H.J.
SCHMIDT, J.G.H. Ueber die Verseifbarkeit verschiedener Steroidhormonester
Hoppe-Seyler Ztschrift. f. physiol. Chem. 296 (1954) 256
- (19) HART, J.G. Titel wie oben (1967) S. 28
- (20) HUEBENER, H.J.
SCHMIDT, J.G.H. Ueber die Verseifbarkeit verschiedener Steroidhormonester
Hoppe-Seylers Ztschrift. f. physiol. Chem. 296 (1954) 255
- (21) HART, J.G. Titel wie oben (1967) S. 29
- (22) HUEBENER, H.J.
SCHMIDT, J.G.H. Ueber die Verseifbarkeit verschiedener Steroidhormonester
Hoppe-Seylers Ztschrift. f. physiol. Chem. 296 (1954) 255
- (23) GERHARDS, E. zit. b. HART, J.G. Nr.(21)
- (24) JANSSEN, E.T. Steroidester hydrolysis by the rat gut
Arch. Biochem. Biophys. 98 (1962) 516
- (25) SCHMIDT, W. Morphologische Grundlagen der enteralen Resorption
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 250 (1965) 178

- (26) REIN
SCHNEIDER, M. Einführung in die Physiologie
des Menschen (1964)
- (27) HART, J.G. Titel wie oben (1967) S. 24
- (28) HUEBENER, H.J.
SCHMIDT, J.G.H. Ueber die Verseifbarkeit verschiede-
ner Steroidhormonester
Hoppe-Seylers Ztschrft. f. physiol.
Chem. 296 (1954) 251
- (29) STOEHR, P.
v. MOELLENDORF, W.
GOERTLER, K. Lehrbuch der Histologie
Gustav Fischer, Jena (1963)
- (30) Documenta Geigy Basel
Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage 1969
- (31) NEUMANN, F.
KRAMER, M.
RASPE, G. Das endokrinologische Wirkungs-
spektrum von 19-Nor-17 α -Hydroxy-
progesteron-capronat
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 18
(1968) 1289 - 1297
- (32) NEUMANN, F. persönliche Mitteilung
- (33) WENZEL, M.
KLEUCKER, H.
SCHULZE, P.E. Verfolgung der in vivo-Oxydation
von 17-Hydroxy- zu 17-Keto-Steroiden
durch Messung der Tritiumaktivität
im Körperwasser
Z.Naturforschg. 21 b (1966) 1178-118
- (34) KOLB, K. H. Pharmakokinetik von Cyproteron-
acetat im Tierversuch und am
Menschen
unveröffentlichte Untersuchungen
aus dem Hauptlaboratorium der
Schering AG., Berlin
- (35) KOLB, K. H. Pharmakokinetik von Oestradiol-
valerianat
unveröffentlichte Untersuchungen
aus dem Hauptlaboratorium der
Schering AG., Berlin
- (36) KRAMER, M. persönliche Mitteilung
- (37) RAPOPORT, S.M. Medizinische Biochemie, 3. Auflage
(1965) S. 305
- (38) RAPOPORT, S.M. Medizinische Biochemie, 3. Auflage
(1965) S. 348

Lebenslauf

Am 27. März 1943 wurde ich als einziger Sohn der Betriebsleiterin Erika Wenzel in Berlin geboren.

Ab 1949 besuchte ich die Grundschule in Ost-Berlin. 1953 wurde ich in das Evangelische Gymnasium "Zum Grauen Kloster" in Berlin-Grunewald eingeschult. Das Evangelische Gymnasium besuchte ich bis zum 13. August 1961.

Durch die Absperrmaßnahmen am weiteren Schulbesuch in West-Berlin gehindert, habe ich bis zum 14.12.1961 an einem Krankenhaus in Ost-Berlin als Krankenpfleger gearbeitet. Nach meiner Flucht im Dezember 1961 setzte ich die Schulausbildung am Evangelischen Gymnasium fort, wo ich im Februar 1963 die Reifeprüfung ablegte.

Im Anschluß daran begann ich im Sommersemester 1963 mit dem Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin. Im März 1969 bestand ich das Medizinische Staatsexamen.

Schon während des Studiums begann ich unter der Anleitung von Prof. Dr. M. Kramer im Hauptlaboratorium der Schering AG., Berlin, mit der Abfassung der vorliegenden Dissertation.

Lebenslauf

Am 27. März 1923 wurde ich als einziges Kind der Eheleute
Leopold Bruno Schmitt in Berlin geboren.

Im Jahr 1929 wurde ich als Schüler in der Berlin-
1932 wurde ich in die Evangelische Gymnasien "des Grauen
Klosters" in Berlin-Grünow eingeschrieben. Nach bestandener
Grundschulprüfung am 17. August 1931.

Nach der Abgabepflichtung an das evangelische Gymnasium in
West-Berlin (Kloster), habe ich am 14. 11. 1931 an
diesem Gymnasium in der Klasse des Hauptlehrers
aufgenommen. Nach meiner Prüfung im Dezember 1931 wurde ich
zur Fortsetzung an das evangelische Gymnasium in
am 1. Februar 1932 die Aufnahmeprüfung abgelegt.

In diesem Jahr begann ich im Sommersemester 1932 die
Studien der Medizin an der Freien Universität Berlin.
Im Jahr 1933 bestand ich das Medizinische Staatsexamen.

Nach Abschluss des Studiums begann ich unter der Leitung
von Prof. Dr. F. Schmitt in der Pathologischen Abteilung
am 1. April 1934 die Leitung des pathologischen Instituts.

